

## · 藥理與臨床 ·

## 大黃素蒽醌衍生物介導 KB 及 KBv200 細胞氧化損傷的研究

丁 岩<sup>1</sup>, 梁永鉅<sup>1</sup>, 陸 豫<sup>2</sup>, 陳黎明<sup>1</sup>, 李艷芳<sup>1</sup>, 古練權<sup>2</sup>, 符立梧<sup>1\*</sup>

(1. 中山大學 腫瘤防治中心, 廣東 廣州 510060; 2. 中山大學 有機合成教研室, 廣東 廣州 510275)

**摘要:** 目的 研究以大黃素為母體結構, 人工半合成的 4 種蒽醌衍生物抑制 KB 和 KBv200 細胞增殖的作用機制。方法 採用 MTT 比色法測定細胞毒作用; 採用流式細胞儀檢測分別用 DCFH-DA 和 DDC<sub>6</sub> 熒光探針標記的細胞內活性氧 (ROS) 和線粒體跨膜電位 ( $\Delta\Psi_m$ )。結果 4 種蒽醌衍生物均能不同程度地抑制 KB 和 KBv200 細胞的增殖, 表現為較強的體外抗腫瘤作用: 1, 8-二(二甲氨基乙基)-3-甲基-6-甲氧基蒽醌 (H-19) 對 KB 和 KBv200 細胞 IC<sub>50</sub> 分別為 1.37 和 1.42  $\mu\text{mol/L}$ ; 1-吡啶乙基-3-甲基-6, 8-二甲氧基蒽醌 (H-21) 的 IC<sub>50</sub> 分別是 13.0 和 17.9  $\mu\text{mol/L}$ ; 1-吡咯烷乙基-3-甲基-6, 8-二甲氧基蒽醌 (H-25) 的 IC<sub>50</sub> 分別是 8.5 和 11.7  $\mu\text{mol/L}$ ; 1-羥丁基-3-甲基-6, 8-二甲氧基蒽醌 (H-28) 的 IC<sub>50</sub> 分別是 7.6 和 8.6  $\mu\text{mol/L}$ , 且各藥對敏感株 KB 和相應的多藥耐藥 (MDR) 細胞 KBv200 的 IC<sub>50</sub> 相近 ( $P > 0.05$ )。用 4 種藥物分別處理兩種細胞 12, 24, 48 h, 12 h 即能引起 ROS 的明顯增加, 24 h 達到最大, 與 48 h 引起的 ROS 增加差異不顯著; 各藥均引起兩種細胞  $\Delta\Psi_m$  時間依賴性的降低, 48 h 時  $\Delta\Psi_m$  降低達到最大。結論 4 種大黃素蒽醌衍生物可能通過誘導細胞內 ROS 的增加, 使得  $\Delta\Psi_m$  降低, 從而抑制 KB 和 KBv200 細胞的生長, 且對 MDR 細胞無抗藥性, 具有開發前景。

**關鍵詞:** 蒽醌衍生物; 活性氧; 線粒體跨膜電位; 抗腫瘤

中圖分類號: R286.91

文獻標識碼: A

文章編號: 0253-2670(2004)11-1259-04

**Oxidative damage of parental drug-sensitive KB cells and multidrug resistant KBv200 cells mediated by anthraquinone derivatives**D N G Yan<sup>1</sup>, L I A N G Yong-ju<sup>1</sup>, L U Yu<sup>2</sup>, C H E N L i m i n g<sup>1</sup>, L I Y a n - f a n g<sup>1</sup>, G U L i a n - q u a n<sup>2</sup>, F U L i w u<sup>1</sup>

(1. Cancer Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, China; 2. Department of Organic Chemistry, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

**Abstract:** **Object** To study the inhibitory mechanism of four anthraquinone derivatives, which were obtained from modifying the structure of emodin, on proliferation of parental drug-sensitive KB cells and multidrug resistant (MDR) KBv200 cells. **Methods** Cytotoxicity was determined by tetrazolium (MTT) assay. Reactive oxygen species (ROS) levels and mitochondrial membrane potential ( $\Delta\Psi_m$ ) in cells respectively labelled by DCFH-DA and DDC<sub>6</sub> were assayed by flow cytometry. **Results** All four anthraquinone derivatives suppressed proliferation of KB and KBv200 cells, showed potent cytotoxicity, the mean IC<sub>50</sub> of H-19 (1, 8-dimethylaminoethylamino-3-methyl-6-methoxy-anthraquinone) to KB and KBv200 cells was 1.37 and 1.42  $\mu\text{mol/L}$ , respectively. IC<sub>50</sub> of H-21 (1-pyridylethylamino-3-methyl-6, 8-dimethoxy-anthraquinone) was 13.0 and 17.9  $\mu\text{mol/L}$ , IC<sub>50</sub> of H-25 (1-pyrrolylethylamino-3-methyl-6, 8-dimethoxy-anthraquinone) was 8.5 and 11.7  $\mu\text{mol/L}$ , IC<sub>50</sub> of H-28 (1-hydroxybutylamino-3-methyl-6, 8-dimethoxy-anthraquinone) was 7.6 and 8.6  $\mu\text{mol/L}$ . The IC<sub>50</sub> of them to MDR KBv200 cells was similar to that of them to the parental drug-sensitive KB cells ( $P > 0.05$ ). The generation of ROS increased obviously after the cells were incubated with them for 12 h, and the increase of ROS reached the peak treated for 24 h. The levels of  $\Delta\Psi_m$  were time-dependently decreased after treating with four compounds for 12, 24, and 48 h. **Conclusion** The growth of both MDR KBv200 cells and parental drug-sensitive KB cells were inhibited to the treatment of four anthraquinone derivative *in vitro*. The mechanism of their effects is associated with the increase of the cellular ROS level and the decrease of  $\Delta\Psi_m$ .

**Key words:** anthraquinone derivatives; reactive oxygen species (ROS); mitochondrial membrane potential ( $\Delta\Psi_m$ ); antitumor

收稿日期: 2004-02-13

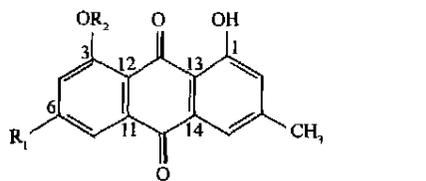
作者簡介: 丁 岩 (1976—), 女 (回族), 新疆人, 博士, 中山大學腫瘤防治中心抗癌藥物室助理研究員, 主要從事抗腫瘤藥物及多藥耐藥機制的研究。Tel: (020) 87343164 E-mail: yanding66@hotmail.com rubydy@yahoo.com

\* 通訊作者 Tel: (020) 87343163 E-mail: Fulw@gzsums.edu.cn

目前化学治疗仍是重要的肿瘤治疗手段之一,许多化疗药物如 5-氟尿嘧啶 (5-Fu)、阿霉素、顺铂、长春新碱等是通过诱导细胞内活性氧 (ROS) 的产生,引起细胞凋亡的途径来杀死肿瘤细胞,但它们引起的不良反应及多药耐药作用 (multi-drug resistance, MDR) 限制了其临床应用<sup>[1]</sup>。我国植物资源丰富,从中药中寻找新的不良反应少、疗效好的化疗药物成为临床和基础研究中十分重要的课题。大黄素 (emodin, EMO) 为蒽醌类衍生物,是中药大黄的主要有效单体,具有多种药理作用,如抗菌、抗病毒等,也有抑制肿瘤生长或促进肿瘤细胞凋亡的作用<sup>[2]</sup>,但由于其抗癌活性不够高,难应用于临床。初步研究发现以大黄素为先导化合物人工合成的 4 种蒽醌衍生物均不同程度抑制人口腔鳞癌细胞 KB 及其多药耐药株 KBv200 的增殖,具有一定的体外抗肿瘤作用,本研究拟从线粒体依赖性凋亡通路探讨其可能的作用机制。

1 材料与方

1.1 药品: 本实验所用的 4 种单体物质是对天然药材虎杖中分离获得的大黄素 (1, 6, 8-三羟基-3-甲基蒽醌) 进行相应的结构改造而合成,分别为 H-19 [1, 8-二(二甲氨基乙氨基)-3-甲基-6-甲氧基蒽醌]、H-21 (1-吡啶乙氨基-3-甲基-6, 8-二甲氧基蒽醌)、H-25 (1-吡咯烷乙氨基-3-甲基-6, 8-二甲氧基蒽醌)、H-28 (1-羟丁氨基-3-甲基-6, 8-二甲氧基蒽醌) (纯度均 > 98%); 溶于 DM SO 配成 100 mmol/L 的母液,临用前注射用水稀释至所需浓度。它们的化学结构见图 1。



- 大黄素 R<sub>1</sub>=OH R<sub>2</sub>=H
- H-19 R<sub>1</sub>=OCH<sub>3</sub> 1, 8 位: -NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>
- H-21 R<sub>1</sub>=OCH<sub>3</sub> R<sub>2</sub>=CH<sub>3</sub> 1 位: -NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N
- H-25 R<sub>1</sub>=OCH<sub>3</sub> R<sub>2</sub>=CH<sub>3</sub> 1 位: -NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N
- H-28 R<sub>1</sub>=OCH<sub>3</sub> R<sub>2</sub>=CH<sub>3</sub> 1 位: -NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>

图 1 大黄素蒽醌衍生物的化学结构

Fig 1 Structure of anthraquinone derivatives of emodin

1.2 试剂: 噻唑蓝 (MTT)、D DC<sub>6</sub> 购于 Sigma 公司; RPM II640 培养基购于 Gibco 公司; 2, 7-Dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA) 分子探针购于 Eugene, OR 公司。

1.3 细胞培养: KB 细胞和 KBv200 细胞培养在含

10% 小牛血清的 RPM II640 培养液内,置 37、5% CO<sub>2</sub>温箱中培养。KBv200 细胞是用对长春新碱 (VCR) 敏感的 KB 细胞为亲本,通过诱变剂甲基磺酸乙酯刺激,然后在培养液中加入浓度递增的 VCR 诱导而得,在 VCR 浓度为 200 nmol/L 时生长良好,较 KB 细胞对 VCR 耐药约 100 倍,其耐药机制主要与 P-gp 过度表达有关<sup>[3]</sup>。两细胞均为中国医学科学院中国协和医科大学药物研究所提供。

1.4 细胞毒的测定: 本实验以 MTT 法<sup>[4]</sup>进行。细胞以 8 × 10<sup>3</sup>/mL 接种于 96 孔板上,每孔总体积为 190 μL,培养 24 h 后,分别加入 10 μL 不同浓度的 4 种化合物,同时设立生理盐水对照组,药物作用 72 h,结束前 4 h 加入 MTT 溶液,继续培养 4 h 后,倾去培养液,加入二甲基亚砷,待完全溶解显色后,用酶联仪以 540 nm/650 nm 双波长测定吸光度 (A) 值,计算细胞存活率。以 Bliss 法分别计算各化合物抑制细胞生长达 50% 时药物浓度,即 IC<sub>50</sub>值。

$$\text{细胞存活率} = \frac{\text{实验组 } A \text{ 值}}{\text{对照组 } A \text{ 值}} \times 100\%$$

1.5 细胞内 ROS 检测: DCFH-DA 可被细胞内 ROS 氧化为发荧光的 DCF,故 DCF 的强度即代表细胞内 ROS 水平。将各种药物分别与两种细胞共同培养 12、24、48 h 后,收集细胞,加入 DCFH-DA 10 μmol/L,37 孵育 15 min 后,冰 PBS 漂洗,重悬后避光置于冰上待检,用流式细胞仪 (FACScan; Becton Dickinson) 检测细胞荧光强度<sup>[5]</sup>。

1.6 线粒体跨膜电位 (ΔΨ<sub>m</sub>) 检测: 3, 3-碘化二己基羰花菁 (D DC<sub>6</sub>) 是一种亲脂性荧光染料,可借助线粒体的负膜电位进入线粒体并集中在其骨架中,因此可用于测定 ΔΨ<sub>m</sub>。取阴性对照和分别为 2、15、10、10 μmol/L 的 H-19、H-21、H-25、H-28 与两种细胞共同孵育不同时间的细胞培养液,离心收集 5 × 10<sup>5</sup>细胞,加入 40 nmol/L D DC<sub>6</sub> 0.1 mL,37 孵育 15 min。加入 1 mL PBS 洗涤 2 次。最后加入 1 mL PBS 使细胞重新混悬,流式细胞仪检测<sup>[6]</sup>。D DC<sub>6</sub> 的激发波长为 488 nm,发射波长为 525 nm。

1.7 统计学方法: 样本均数间比较采用方差分析方法,组间比较采用 LSD 法,统计学处理均使用 SPSS 软件 (10.0) 进行分析。

2 结果

2.1 对 KB 和 KBv200 细胞生长的影响: 结果表明 4 种化合物对 KB 和 KBv200 细胞生长均有较强的抑制作用,且每种化合物分别对 KB 和 KBv200 细胞的 IC<sub>50</sub>进行比较差异均无显著性 (P > 0.05),表明 MDR 细胞株对这 4 种大黄素蒽醌衍生物均无抗

药性, 即这 4 种大黄素蒽醌衍生物具有抗 MDR 肿瘤细胞的作用。4 种化合物的 IC<sub>50</sub> 值见表 1。

表 1 4 种大黄素蒽醌衍生物对 KB 和 KBv200 的细胞毒作用 ( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

Table 1 Cytotoxicity of four anthraquinone derivatives of amodin on KB and KBv200 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

组别	IC <sub>50</sub> /( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	
	KB 细胞	KBv200 细胞
H-19	1.4 ± 0.5	1.4 ± 0.5
H-21	13.0 ± 2.5	17.9 ± 7.1
H-25	8.5 ± 1.2	11.7 ± 2.9
H-28	7.6 ± 3.1	8.6 ± 3.4

2.2 对 KB 和 KBv200 细胞内 ROS 的影响: 结果见表 2。经不同浓度大黄素蒽醌衍生物 (H-19、H-21、H-25、H-28 浓度分别为 2、15、10、10  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理 KB 和 KBv200 细胞 12 h, 即出现 ROS 明显增加,

表 2 4 种大黄素蒽醌衍生物对 KB 和 KBv200 细胞内 ROS 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 2 Effects of four anthraquinone derivatives of amodin on ROS level in KB and KBv200 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	浓度 /( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	KB 细胞平均荧光强度 (FI)				KBv200 细胞平均荧光强度 (FI)			
		0 h(对照)	12 h	24 h	48 h	0 h(对照)	12 h	24 h	48 h
H-19	2	5.8 ± 2.3	14.5 ± 3.3*	24.8 ± 6.2**	22.9 ± 5.7**	4.4 ± 1.2	11.7 ± 2.8*	21.5 ± 4.1**	19.1 ± 6.0**
H-21	15	6.4 ± 1.1	9.6 ± 5.8*	14.2 ± 3.9*	15.6 ± 4.4*	5.3 ± 1.3	8.7 ± 2.7*	12.5 ± 4.6*	13.3 ± 4.1*
H-25	10	6.7 ± 2.4	11.1 ± 3.1*	17.1 ± 5.1*	16.6 ± 4.7*	5.9 ± 2.1	10.2 ± 2.9*	15.3 ± 4.7*	14.7 ± 3.8*
H-28	10	5.8 ± 1.3	12.7 ± 3.5*	19.7 ± 4.5*	17.1 ± 4.3*	5.1 ± 1.1	10.6 ± 3.3*	17.3 ± 5.1*	16.2 ± 5.4*

与同种细胞 0h (对照) 比较: \*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$

\*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$  vs same kind of cells for 0 h (control)

表 3 4 种大黄素蒽醌衍生物对 KB 和 KBv200 细胞  $\Delta\Psi_m$  的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 3 Effects of four anthraquinone derivatives of amodin on  $\Delta\Psi_m$  in KB and KBv200 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	浓度 /( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	KB 细胞平均荧光强度 (FI)				KBv200 细胞平均荧光强度 (FI)			
		0 h(对照)	12 h	24 h	48 h	0 h(对照)	12 h	24 h	48 h
H-19	2	13.7 ± 3.1	15.4 ± 3.8	17.1 ± 4.3*	24.8 ± 6.7**	11.5 ± 2.2	13.3 ± 3.6	15.8 ± 3.8*	21.1 ± 5.6**
H-21	15	15.2 ± 4.2	16.7 ± 4.9	17.2 ± 6.3	19.3 ± 6.1*	13.3 ± 3.9	14.3 ± 4.2	16.6 ± 5.0	19.1 ± 5.7*
H-25	10	12.8 ± 4.3	14.1 ± 6.8	16.7 ± 5.2*	20.1 ± 7.1*	13.7 ± 3.6	14.6 ± 4.9	15.3 ± 6.0*	19.7 ± 6.5*
H-28	10	15.1 ± 3.9	15.7 ± 4.5	17.7 ± 6.2	21.3 ± 6.8*	14.8 ± 4.5	14.6 ± 5.1	17.3 ± 7.1	20.2 ± 5.4*

与同种细胞 0h (对照) 比较: \*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$

\*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$  vs same kind of cells for 0 h (control)

### 3 讨论

大黄素是一种蒽醌类物质, 主要存在于蓼科植物如大黄、虎杖的根茎中, 具有多种生物活性, 可以抑制病毒复制、炎症反应, 可以抑制多种肿瘤细胞的增殖, 如 HL 260 细胞、K562 细胞、Hela 细胞, 抑制蛋白激酶 C、c-src、p56<sup>lck</sup> 和 HER-2 蛋白酪氨酸激酶等的活性<sup>[7]</sup>, 促进内质网 Ca<sup>2+</sup> 释放入细胞浆<sup>[8]</sup>。但是, 大黄素由于抗癌活性不高且具有心脏毒性等副作用而限制了其临床应用。因此, 在其蒽醌母核的基础上进行相应的结构改造, 以期找到疗效更强且毒性更低的大黄素蒽醌类衍生物。本实验所采用的 4 种大黄素蒽醌衍生物即是对大黄素进行了相应结构改

造而合成的, 前期研究已证实它们具有较大黄素更强的抑瘤活性, 因此有必要对它们的体内外抗肿瘤活性及作用机制进行深入探讨。本实验结果表明它们能不同程度地抑制 KB 和 KBv200 细胞的增殖, 均显示较强的体外抗肿瘤作用, 其中 H-19 > H-28 > H-25、H-21, 并且它们各自对两种细胞生长抑制的 IC<sub>50</sub> 值都很接近 ( $P > 0.05$ ), 显示它们对敏感株和耐药株的作用差别不大, 即表明它们对 MDR 肿瘤细胞仍然有效; 结合构效关系分析认为它们的抗癌活性与其母体结构中 1、6、8 位引入的基团有关, 并且 6 位甲氧基取代大黄素 6 位的羟基可能是它们抑瘤作用强于大黄素的条件之一, 其次 1、

表现为平均荧光强度增加, 峰值右移。其中 H-19 表现最为明显, 峰值出现有意义的向右移动 (图略), 24 h 后达最大, 至 48 h 几乎不再增加, 甚至个别出现微弱左移。每种药物分别对 KB 和 KBv200 细胞 ROS 的影响基本一致, 差异无显著性。

2.3 对 KB 和 KBv200 细胞  $\Delta\Psi_m$  的影响: 用 DDC<sub>6</sub> 作为荧光探针测定  $\Delta\Psi_m$  时, 发现 4 种药物均能不同程度地降低  $\Delta\Psi_m$  的水平, 表现为峰值右移 (图略), 平均荧光强度增加, 见表 3。而且随着时间的延长变异逐渐明显。作用于细胞株 12、24 h 后  $\Delta\Psi_m$  有所改变, 但变化不很明显, 作用 48 h 后  $\Delta\Psi_m$  明显降低, 峰值明显右移, 其中 H-19 作用后引起两种细胞  $\Delta\Psi_m$  的变化最明显, 并且每种药物分别对两种细胞  $\Delta\Psi_m$  的影响差异也无显著性。

8 位被脂肪氨基对称地取代, 显示细胞毒作用最强, 抗癌活性明显提高, 至于它们抗 MDR 肿瘤细胞作用是否也与它们的这种结构有关还有待继续研究。

ROS 是指氧的某些代谢产物和一些反应的含氧产物。生理状态下, 机体产生的自由基与抗氧化防御系统处于相对平衡。在各种病理因子作用下, 机体产生大量自由基, 或机体抗氧化防御系统受到破坏, 造成细胞结构和功能的破坏。本实验结果表明 4 种药物分别与两种细胞共同培养 12、24、48 h, 12 h 即能引起细胞内 ROS 明显增加, 24 h 时细胞内 ROS 的增加达到最大, 曲线明显右移, 48 h 细胞内 ROS 不再显著性增加, 甚至个别出现曲线微弱左移(图略)。同时, 用 DDC<sub>6</sub> 检测到 4 种药物分别作用两种细胞 12、24 h 后, 线粒体跨膜电位 ( $\Delta\Psi_m$ ) 稍有降低, 至 48 h 后出现  $\Delta\Psi_m$  明显降低, 这与 Cortassa<sup>[9]</sup> 等的实验结果相吻合, 表明 ROS 的增加可直接或间接损伤线粒体膜, 造成膜电位下降, 一些学者的研究结果也支持这一结论<sup>[9, 10]</sup>。

研究发现 ROS 可能作为信号分子介导了细胞对促凋亡信号的反应。因此, 推测这 4 种大黄素蒽醌衍生物抑制 KB 和 KBv200 细胞的增殖, 可能与其通过线粒体途径诱导细胞凋亡有关。因为它们均能增加细胞内 ROS, 当 ROS 增加到一定程度, 即引起细胞脂质过氧化, 从而干扰细胞线粒体的功能使得线粒体 MPTP 开放, 不仅导致跨膜电位崩溃, 也使细胞色素 C 外漏, 最终启动 Caspase 的级联活化从而引起细胞凋亡, 这就是所谓的线粒体依赖性凋亡通路。这 4 种大黄素蒽醌衍生物是否通过该通路发挥抗肿瘤作用, 相关的研究正在进行中。此外, 它们是在大黄素母核结构基础上经过不同基团修饰合成

的, 它们对 MDR 细胞无抗药性, 因此对它们构效关系及作用机制关系的进一步研究, 有可能为开发较大黄素作用更强的抗 MDR 肿瘤的药物提供线索。

#### References

- [1] Huang M, Lin G. The study of innate drug resistance of human hepatocellular carcinoma Bel7402 cell line [J]. *Cancer Lett*, 1999, 135(1): 97-105.
- [2] Lee H Z. Protein kinase C involvement in aloe-emodin and emodin-induced apoptosis in lung carcinoma cell [J]. *Br J Pharmacol*, 2001, 134(5): 1093-1103.
- [3] Fu L W, Deng Z A, Pan Q C, et al. Screening and discovery novel potent the multidrug resistant modulators from naturally occurring bisbenzylisoquinoline alkaloids [J]. *Anticancer Res*, 2001, 21(4A): 2273-2280.
- [4] Fu L W, Zhang Y M, Liang Y J, et al. The multidrug resistance of tumor cells was reversed by tetrandrine *in vitro* and in xenografts derived from human breast adenocarcinoma MCF-7/adr cells [J]. *Eur J Cancer*, 2002, 38(3): 418-426.
- [5] Pardhasaradhi B V, Ali A M, Kumari A L, et al. Phyco-cyanin mediated apoptosis in AK-5 tumor cells involves down-regulation of Bcl-2 and generation of ROS [J]. *Mol Cancer Ther*, 2003, 2(11): 1165-1170.
- [6] Fennell D A, Cotter F E. Stochastic modeling of apoptosis-tolerance distributions measured by multivariate flow analysis of human leukemia cells [J]. *Cytometry*, 2000, 39(4): 266-274.
- [7] Kumar A, Dhawan S, Aggerwal B B. Emodin (3-methyl-1, 6, 8-trihydroxyanthraquinone) inhibits TNF-induced NF- $\kappa$ B activation, I $\kappa$ B degradation, and expression of cell surface adhesion proteins in human vascular endothelial cells [J]. *Oncogene*, 1998, 17(7): 913-918.
- [8] Cheng Y W, Kang J J. Emodin-induced muscles contraction of mouse diaphragm and the involvement of Ca<sup>2+</sup> influx and Ca<sup>2+</sup> release from sarcoplasmic reticulum [J]. *Br J Pharmacol*, 1998, 123(5): 815-820.
- [9] Cortassa S, Aon M A, Winslow R L, et al. A mitochondrial oscillator dependent on reactive oxygen species [J]. *Bioophys J*, 2004, 87(3): 2060-2073.
- [10] Camody R J, Cotter T G. Oxidative stress induces caspase-independent retinal apoptosis *in vitro* [J]. *Cell Death Differ*, 2000, 7(3): 282-291.
- [11] Ding W X, Shen H M, Ong C N. Critical role of reactive oxygen species and mitochondrial permeability transition in microcystin-induced rapid apoptosis in rat hepatocytes [J]. *Hepatology*, 2000, 32(3): 547-555.

## Anti-inflammatory activity of ethanol extracts from root of *Daphne genkwa*

ZHEN G Wei-fa<sup>1</sup>, WANG L i<sup>2</sup>, SH I Feng<sup>1\*</sup>

(1. Key Laboratory for Biotechnology on Medicinal Plants of Jiangsu Province, Xuzhou Normal University, Xuzhou 221116, China; 2. School of Life Science, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

**Abstract Object** To elucidate the anti-inflammatory activity of the ethanol extracts from roots of

\* 收稿日期: 2004-02-06

基金项目: 教育部科学技术研究重点项目 (03049); 江苏省教育厅自然科学基金重点项目 (02KJA 360002); 江苏省药用植物生物技术重点实验室开放基金 (KJS02114)

作者简介: 郑维发 (1962—), 男, 安徽南陵人, 理学博士, 教授, 研究方向为天然产物化学及其药理毒理学。

Tel/Fax: (0516) 3403179 E-mail: yzvw@xznz.edu.cn